Studien
über das
Freiburger hämorrhagische Mäusekarzinom.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der veterinär medizinischen Doktorwürde

der

vereinigten medizinischen Fakultät

der

Großherzoglich Hessischen Ludwigs-Universität zu Gießen

vorgelegt von

Dr. med. Emil Küster,
approb. Tierarzt aus Wetzlar.

Mit 1 Kurve und 9 Textfiguren.



Verlag von Gustav Fischer in Jena.
1910.

Studien
über das
Freiburger hämorrhagische Mäusekarzinom.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der veterinär medizinischen Doktorwürde

der

vereinigten medizinischen Fakultät

der

Großherzoglich Hessischen Ludwigs-Universität zu Gießen

vorgelegt von

Dr. med. Emil Küster,

approb. Tierarzt aus Wetzlar.

Mit 1 Kurve und 9 Textfiguren.



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

1910.

Gedruckt mit Genehmigung der vereinigten medizinischen Fakultät zu Gießen.

Referent: Prof. Dr. Bostroem.

Sonderabdruck aus der Zeitschrift für Tiermedizin 1910.

Zu den Krankheiten, die durch ihr verderbliches Auftreten in den letzten Jahrzehnten ein besonderes Interesse bei Ärzten und gebildeten Laien wachgerufen haben, gehört vor allem das Krebsleiden. Vergleicht man die heutigen Statistiken von Krankheits- und Todesursachen mit solchen, die vor einigen Jahrzehnten zusammengestellt wurden, so ergibt sich eine beträchtliche Zunahme der Krebskrankheit. Hieraus auf eine absolute Zunahme der Krebserkrankungen zu schließen, wäre aber durchaus verfehlt: man muß bei der Krebsstatistik zunächst berücksichtigen, daß der Krebs mit unseren modernen verfeinerten diagnostischen Hilfsmitteln viel leichter und sicherer erkannt wird; sodann ist der Krebs schon längst als eine Krankheit des höheren Lebensalters bekannt und da nun nachweislich durch den günstigen Einfluß hygienischer Maßregeln in fast allen Kulturstaaten das Lebensalter der Menschen verlängert wurde, so muß mit der größeren Lebensdauer praktisch auch eine Vermehrung der Alterskrankheiten, zu denen, wie gesagt, der Krebs gerechnet werden muß, einhergehen.

Wie dem auch sei, jedenfalls ist in den letzten Jahren mit dem vermehrten Interesse auch das ernste Bestreben zutage getreten, Mittel und Wege zur Bekämpfung der Krebskrankheit zu finden und Staat, wie weitblickende einsichtsvolle Privatleute, haben hierzu reichlich pekuniäre Hilfe geleistet.

So hat die Krebsforschung einen ungeahnten Aufschwung genommen und besonders dadurch beachtenswerte Resultate zeitigen können, daß es gelang, durch Übertragung der Geschwülste krebskranker Tiere auf gesunde Individuen der gleichen Art experimentelle Studien über diese Krankheit anzustellen. So wie zu Beginn der bakteriologischen Ära die Erforschung der tierischen oder auf Tiere übertragbaren bakteriellen ansteckenden Krankheiten unsere Kenntnisse über Ätiologie, Pathologie und Therapie der Infektionskrankheiten gewaltig förderte, so ist auch unser Wissen über die Krebskrankheit durch das Studium der übertragbaren tierischen Krebsgeschwülste vertieft und die Aussicht, auch praktische Erfolge in deren Bekämpfung zu erzielen, eröffnet worden.

Zu den am meisten bearbeiteten und zur Zeit am besten bekannten tierischen Geschwülsten gehört der Krebs der Mäuse. Grund dafür ist einmal die Häufigkeit des spontanen Auftretens von Mäusekrebs und zweitens die Möglichkeit hier besonders gut mit relativ geringen Kosten an einem großen Tiermaterial Versuche anstellen zu können.

Der Krebs der Mäuse kommt nach Apolant in folgenden histologisch unterscheidbaren Formen vor:

1. Carcinoma simplex alveolare.
2. Cystocarcinoma haemorrhagicum.
3. Carcinoma papillare.
4. Spaltbildendes Adenocarcinom.

Die einzelnen Formen sind histologisch nicht streng voneinander getrennt, es kommen Übergangs- und Mischtumoren vor, aber der Haupttypus pflegt doch gewöhnlich so deutlich hervorzutreten, daß die Apolantsche Einteilung heute wohl allgemein angenommen ist.

Der häufigst vorkommende Mäusekrebstypus ist das Cystocarcinoma haemorrhagicum, aber die Häufigkeit seines Vorkommens steht in einem bemerkenswerten Gegensatz zu der Anzahl der bisher gelungenen Übertragungsversuche.

Während Übertragbarkeit, Histologie, Veränderung des histologischen Aufbaues durch Weiterimpfung, Immunitätsverhältnisse usw. bei den übrigen drei Karzinomformen der Mäuse an den verschiedenstem Laboratorien schon eingehend studiert und zum Teil gut bekannt sind, gelang es, das in Deutschland so verbreitete hämorrhagische Mäusekarzinom nur in ganz vereinzelten Fällen mit Erfolg fortzuimpfen.

In seiner grundlegenden Arbeit: „die epithelialen Geschwülste der Maus“ bezeichnet Apolant das hämorrhagische Karzinom als ein Alveolärkarzinom, das erst auf dem Boden cystisch resp. hämorrhagisch degenerierter Adenome entstanden ist.

„Wir müssen also zunächst daran festhalten, daß das Cystocarcinoma haemorrhagicum keine einfache Krebsform darstellt, sondern eine Kombination degenerierender Adenome mit atypischen Epithelwucherungen. Daraus erklärt sich die große Variabilität des histologischen Bildes, denn da die Krebsentwicklung in jedem Stadium der Adenomdegeneration einsetzen kann, so kompliziert sich der an sich schon ziemlich verwickelte Vorgang der hämorrhagisch-cystischen Entartung in der mannigfaltigsten Weise. Trotzdem sind die Geschwülste histologisch scharf genug charakterisiert, um die einzelnen Phasen der Entwicklung klar verfolgen zu lassen.“

Er schreibt weiterhin diesem Tumor eine relative Benignität zu, „wie auch die häufig vorgenommenen Überimpfungen ausnahmslos negativ verlaufen sind, für die Entscheidung der Malignitätsfrage aber ist es unbedingt notwendig, auch die Verhältnisse der Impftumoren, sowie die Metastasenbildungen zu berücksichtigen“.

Wenn ich von dem einen Falle, in dem es Ehrlich gelang, ein hämorrhagisches Mäusekarzinom in mehreren Generationen zu übertragen, absehe, so wurden bisher in Deutschland nur von Hertwig und Poll von gelungenen Übertragungsversuchen berichtet. (In England wurden unter Bashfords Leitung im Londoner Laboratorium der Imperial Cancer Research

bereits eine Reihe von hämorrhagischen Mäusekrebsen in vielen Generationen fortgeimpft.)

Durch besondere Umstände war ich in der Lage, während des letzten Jahres verhältnismäßig umfangreiche Versuche mit einem deutschen hämorrhagischen Mäusekrebs zu beginnen, deren bisherige Resultate in dem folgenden wiedergegeben seien:

Seit etwa 20 Jahren wird in dem hygienischen Institut der Universität Freiburg i. Br. ein Stamm weißer Mäuse gezüchtet. Da auf Haltung und Fütterung der Mäuse mit Rücksicht auf die Brauchbarkeit für Tumorimpfungen (vgl. Gierke) besonderer Wert gelegt wird, so seien diese ausführlich beschrieben. Die Mäuse werden in einfachen Holzkisten von 35 : 35 : 45 cm gehalten, an denen zwei mit Drahtgewebe verschlossene Luftlöcher von 10 : 10 cm angebracht sind. Als Streu dient Stroh, als Futter wird Brot in Milch eingeweicht, zuweilen werden auch Gelbrüben, Weizen und Hanfsamen verabfolgt. Wir züchten pro Jahr etwa 500 Mäuse, so daß unsere Gesamtproduktion in der angegebenen Zeit auf ungefähr 10 000 Stück veranschlagt werden darf; dabei fand niemals eine Blutauffrischung durch Einführung fremder Zuchtmäuse statt, und da häufig die Mäuse zu experimentellen Zwecken verwandt und dabei der Bestand bis auf etwa 50 Tiere aufgebraucht wurde, so mußte aus diesen die Weiterzucht erfolgen. Gerade dieser letztere Umstand erscheint uns für die Beurteilung der Größe der Inzucht von besonderer Wichtigkeit, denn wenn Nachkommen derselben Stammeltern mehrere Generationen hindurch rein fortgezüchtet werden und später dann eine Kreuzung der beiden Linien stattfindet, so werden dadurch praktisch die Schäden der Inzucht vermieden. Da dies bei den von uns gezüchteten Mäusen, wie erwähnt, nicht der Fall war, so dürfen wir von einer Inzestzucht sprechen. Die Fortpflanzungsfähigkeit und die Konstitution, soweit sich diese aus dem äußeren Habitus und der Widerstandsfähigkeit gegen Infektion und Intoxikation beurteilen läßt, hat bei unseren Mäusen jedenfalls nicht gelitten, doch sahen wir eine andere Erscheinung auftreten, die vielleicht

dem Mangel an Bluttauffrischung zugeschrieben und als Zeichen von Degeneration bezeichnet werden muß: ein gehäuftes Auftreten von Tumorbildungen.

Die ersten Tumoren wurden vor etwa 12 Jahren beobachtet; sie traten bei älteren Tieren, und zwar vorzugsweise bei Weibchen, auf. Nur einmal wurde mit Sicherheit bei einem Männchen Tumorbildung gefunden*). Die Tumorgröße schwankte von Erbsen- bis Doppelwalnußgröße. Die Geschwülste pflegen sich in relativ kurzer Zeit zu entwickeln und führen bei der größten Anzahl der befallenen Tiere in 4 bis 6 Wochen vielfach unter Ulzeration der Oberfläche zum Tode. Sie haben äußerlich, wenigstens in späteren Stadien, eine lividrote Farbe und eine bald knollige, bald glatte Oberfläche. Die Haut über den Tumoren ist meist dünn ausgespannt, durchscheinend, anfangs verschieblich, geht aber später häufig mit der Geschwulst feste Verwachsungen ein.

Den beobachteten Tumoren legten wir anfangs wenig Bedeutung bei, nur wurde gelegentlich festgestellt, daß im Innern des Tumorgewebes große Cysten teilweise mit Blut gefüllt, sich vorfanden. In den letzten Jahren traten nun diese Tumoren immer häufiger auf und so begann ich vor $2^1/_2$ Jahren, angeregt durch das allgemeine erhöhte Interesse für Krebsforschung, mit unseren Mäusetumoren zu experimentieren.

Zunächst wurden die Mäuse, welche an Spontantumoren erkrankt waren, sorgfältig anatomisch-histologisch untersucht. Der in unserer Zucht endemische Mäusekrebs trat mit derselben Multiplizität der Tumorbildungen auf, wie sie auch im Londoner Imperial Cancer Research Institut, sowie von Apolant, Hertwig, Poll und vielen anderen beschrieben sind. Unter den 31**) untersuchten Tumormäusen fand ich 8 mal je einen Tumor am oralen Teil der Brust, bald mehr seitlich in der Axillargegend, bald mehr in der Mitte auf dem Manubrium gelegen. Häufig sitzt

*) Vgl. Fig. 1.
**) Bis zur Veröffentlichung dieser Arbeit sind wieder sieben neue Spontantumoren mit hämorrhagischem Charakter aufgetreten.

der Tumor so weit vorn auf der Brustapertur, daß dadurch der Hals zurückgebogen wird. Hatten die Tumoren mit diesem Sitz eine gewisse Größe erreicht, so berührten die Vorderbeine bei der Vorwärtsbewegung den Boden nicht mehr, die Maus mußte halb kriechend oder hüpfend sich fortbewegen. Es traten dann natürlich leicht Verletzungen und Ulzeration der Tumoren auf. Vier Mäuse zeigten einen Tumor der Inguinalgegend, einen Sitz, der praktisch für Züchtungsversuche mit Tumormäusen der allerungünstigste ist, weil eine Fortpflanzung unter diesen Umständen fast ausgeschlossen erscheint. 12 Tumormäuse waren mit Geschwülsten der kaudalen seitlichen Rippengegend, sowie der seitlichen Bauchgegend behaftet, 5 Mäuse entwickelten Doppeltumoren, von denen je einer in der Inguinalgegend, einer an der seitlichen Brustwand seinen Sitz hatte. 2 Mäuse endlich hatten dreifache Tumorbildung. Vgl. Fig. 1, 2, 4, 5.



Fig. 1. Spontantumor Nr. 8. Männchen.

In der Multiplizität der Mäusetumoren wird von den meisten Autoren nicht eine Metastasen-, sondern autochtone mehrfache Tumorbildung erblickt. Als Grund dafür wird u. a. geltend gemacht, daß die histologische Untersuchung von gleichzeitig vorhandenen Tumoren einen verschiedenen Bau erkennen lasse.

Ich möchte in unseren beiden letztgenannten Fällen mich für eine echte Metastasenbildung entscheiden, denn einmal hatten alle Tumoren histologisch den gleichen Grundtypus des hämorrhagischen Cystokarzinoms und dann bietet die Entwicklung der Geschwülste bei Fall 2 (Primärtumor 28) besondere Anhaltspunkte. Bei dieser Maus wurde zunächst ein Tumor der linken Inguinalgegend gefunden, und zwar während einer Laktationsperiode. Der Tumor blieb stationär und makroskopisch von gleicher Größe während der ganzen Zeit des Säugens. Als die Jungen selbständig Futter aufnahmen, wurde die Mutter gesondert gesetzt und jetzt traten bei ihr in wenigen Wochen zwei weitere Tumoren an Brust und Bauch auf. Gleichzeitig begann das Tier, welches bis dahin einen durchaus gesunden Eindruck gemacht hatte, zu kränkeln und sehr rasch und angestrengt zu atmen. Nach weiteren 3 Wochen ging die Maus zugrunde und bei der Sektion erwies sich die ganze Lunge durchsetzt mit hirsekorn- bis linsengroßen metastatischen Tumorknötchen. Da die drei Tumoren und ebenso die Metastasen der Lunge histologisch identisch waren und da, soweit man auf die klinische Beobachtung einer Maus überhaupt Wert legen darf, die Lungenerscheinungen sich mit dem Wachstum des 2. und 3. Tumors entwickelten,



Fig. 2. Spontantumor Nr. 7. 3 Tumoren; in der l. und r. Inguinalgegend Spontanheilung.

so dürfte hier die Annahme einer gleichzeitigen Metastasierung von dem Primärtumor aus weitgehend gestützt erscheinen.

In 7 Fällen von 31 Spontantumoren (13, 15, 18, 22, 24, 28, 31) fand ich makroskopische Metastasen in der Lunge, die dreimal einen ganzen Lungenlappen einnahmen, meist aber nur wie feinste graue miliare Tuberkelknötchen hervortraten.

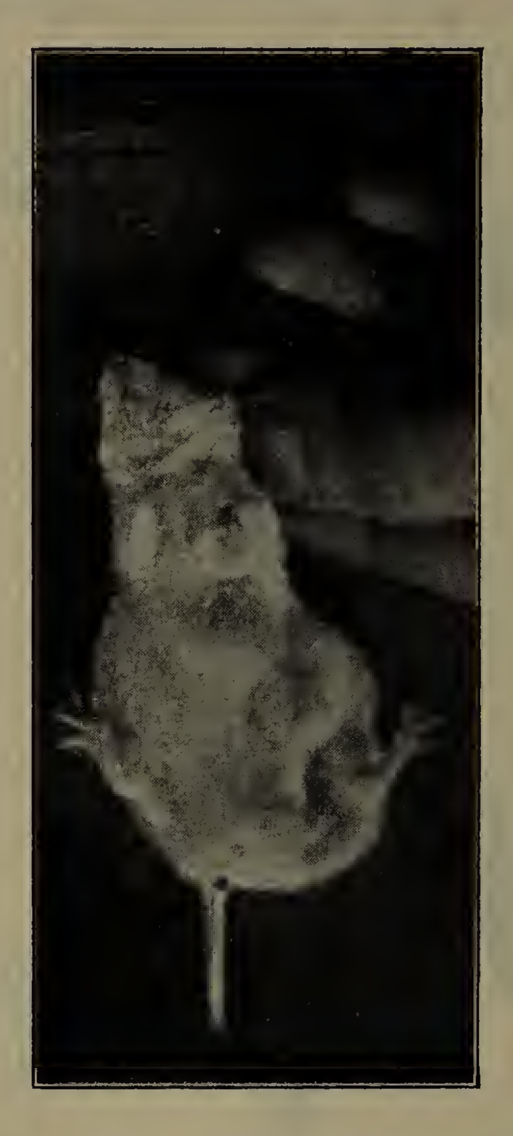


Fig. 3. Impftumor bei Maus XIX d. 5 fach: l. Axilla, 3 Bauchtumoren, ein l. Inguinaltumor.



Fig. 4. Spontantumor Nr. 28. 3 fach und Metastasen der Lunge.

Gierke schreibt bezüglich des makroskopischen Aussehens dieser Metastasen bei dem Bashfordschen hämorrhagischen Mäusekarzinom, daß die kleineren rötlichweiß, die größeren, die unter Umständen eine ganze Lunge einnehmen, regelmäßig hämorrhagisch seien. Diese Beschreibung trifft für die bei unsern Mäusen beobachteten Metastasen nicht zu, die kleineren waren grau, die größeren weiß. Makroskopisch ließen sich Blutansammlungen nicht wahrnehmen. Dies schließt natürlich

nicht aus, daß mikroskopisch reichlich Blutgefäße vorhanden sind. Ich erinnere nur an die exakten Versuche von Goldmann, der mit Hilfe von sorgfältig injizierter Pelikantusche auch in dem weiß erscheinenden Ehrlichschen Mäusechondrom sehr zahlreiche Blutgefäße nachweisen konnte.

Ausnahmsweise habe ich bei Spontantumoren natürliche Heilung eintreten sehen (vgl. Fig. 2). Ein Zurückgehen kleiner nicht ulzerierter Tumoren habe ich niemals beobachtet. Heilte ein Tumor aus, so fand es regelmäßig nur bei großen Geschwülsten statt, bei denen durch irgendeinen Zufall umfangreiche Cysten platzten uud eine Infektion und Ulzeration vermieden wurde. Die geheilten Tumormäuse waren aber in ihrer Lebenskraft meist schwer geschädigt, so daß sie in absehbarer Zeit verendeten, obwohl auf ihre Erhaltung besonderer Wert gelegt wurde.



Fig. 5. Spontantumor Nr. 31.
Metastasen in der Lunge und l. Axilla.

Es war uns besonders auffallend, daß gerade in unserer Zucht*) das hämorrhagische Mäusekarzinom so relativ oft und

*) Die in der Mäusezucht der Freiburger Universitätsaugenklinik und psychiatrischen Klinik beobachteten hämorrhagischen Mäusekarzinome treten bei Mäusen auf, deren Stammeltern vor wenigen Jahren von uns bezogen wurden. Von Zuchtstämmen, die von uns nach auswärts verschickt wurden, ist uns ein gleiches Verhalten nicht bekannt geworden.

immer häufiger auftrat (zuletzt 1—2 % aller Tiere), während andere Zuchtstämme hier in Freiburg nicht diese Erscheinungen boten.

Da das Auftreten der Tumoren bei uns an bestimmte Zuchtkisten nicht gebunden war, so hielten wir es für möglich, daß die ganze Art unserer Tierhaltung vielleicht ein prädisponierendes Moment abgegeben hätte, und versuchten durch Verschlechterung der Lebensbedingungen ein noch stärkeres Auftreten von Spontantumoren zu erzielen. Eine größere Anzahl

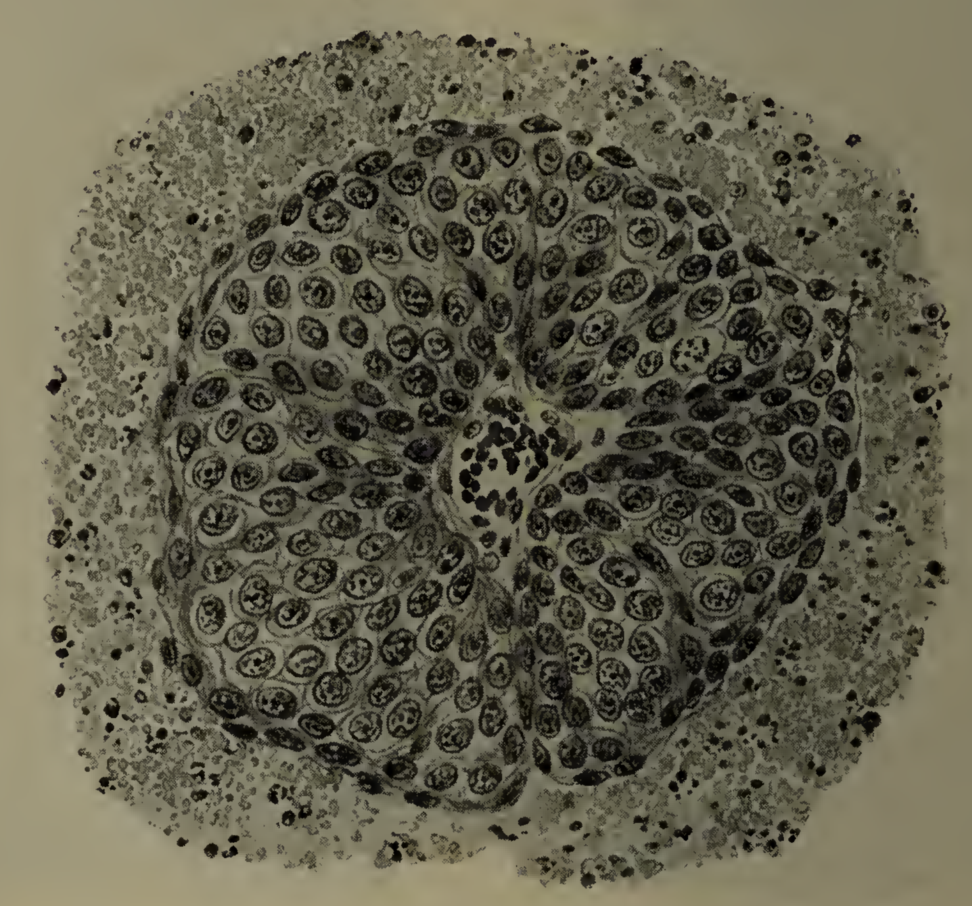


Fig. 6. Schnitt aus Impftumor XXIII c. Vergr. 600.

älterer Tiere, hauptsächlich Weibchen, wurden in einen Stall zusammengebracht, der Stall wurde nicht gereinigt, das Futter bald überreichlich, bald möglichst kärglich zugemessen; wir änderten die Art des Futters, gaben viel Fleischabfälle, frisches Hühnereiweiß, ließen die spontan eingehenden Tiere im Stall liegen, trotzdem traten seit zwei Jahren unter diesen Bedingungen im Verhältnis nicht mehr Tumoren auf als in der übrigen Zucht.

Was den histologischen Aufbau unserer Spontantumoren anbelangt, so konnten wir im allgemeinen die Angaben der

übrigen Autoren bezüglich des Cystocarcinoma haemorrhagicum bestätigen.

Als Beispiel sei hier das mikroskopische Bild einiger Primärtumoren (22—28) beschrieben: Schon für das unbewaffnete Auge erscheint Schnitt Nr. 22 (vgl. Fig. 7 u. 9) siebartig durchlöchert. Bei 250 facher Vergrößerung zeigen die solideren Gewebspartien ein eigentümlich gyrusartiges Wachstum der Tumorzellen. Die Hohlräume, welche bald nur wenige μ groß sind, bald ein ganzes Gesichtsfeld einnehmen, ergeben weitgehende Verschiedenheiten. Die kleinsten besitzen einige Ähnlichkeit mit drüsenartigen Bildungen und sind vielfach nur mit einschichtigem Epithel ausgekleidet; bei anderen ist das Epithel mehrschichtig, um endlich bei den größeren in guirlandenartig zusammengelegte Epithelwucherung überzugehen, die häufig papillenartig in das Lumen vorspringen. Die Hohlräume enthalten in ihrem Innern in der Mehrzahl eine hyaline Masse (Sekret), daneben findet sich bei einigen auch Blut, andere sind ganz mit Blut ausgefüllt. Dieser Tumor (Ia.)*) wurde wie unten erwähnt, operativ entfernt und es bildete sich ein rasch wachsendes lokales Rezidiv (Schnitt 22, Rezidiv). Dies zeichnet sich vor dem Ausgangstumor dadurch aus, daß die Neigung

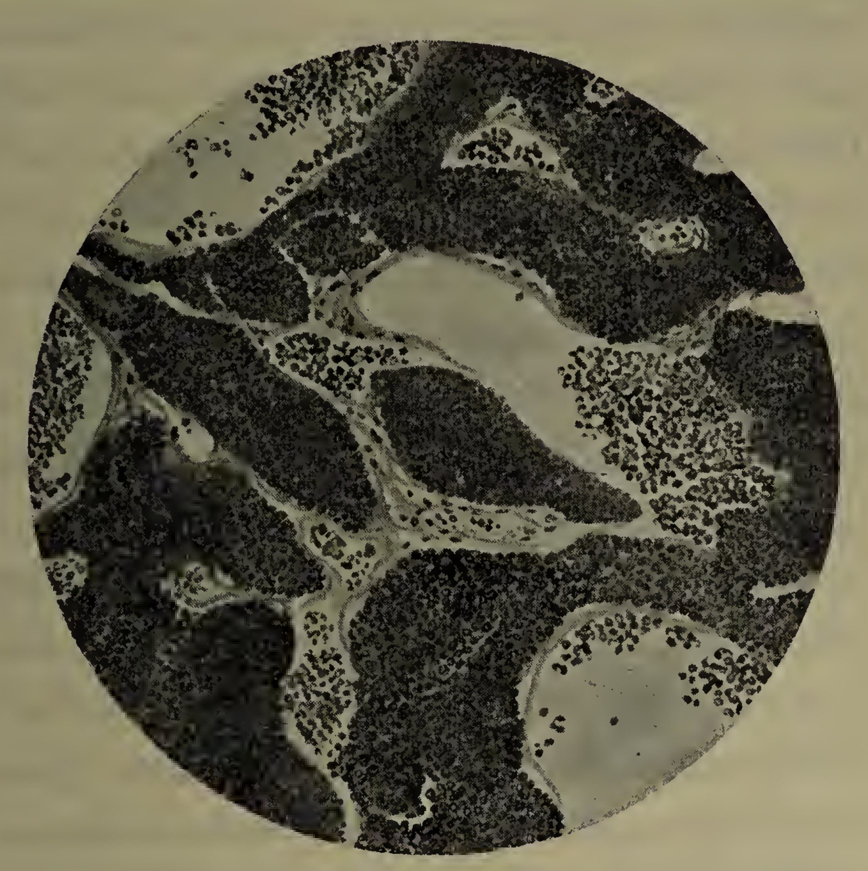


Fig. 7. Schnitt aus Spontantumor Nr. 22. Vergr. 250.

*) Die Primärtumormäuse und die zugehörigen Schnitte sind mit arabischen Zahlen bezeichnet, die Impftumoren mit römischen Zahlen, die Generationen durch Zusatz von kleinen römischen Buchstaben.

zur Hohlraumbildung und gyrusartigem Wachstum auffällig zurücktritt; statt dessen wächst der Tumor jetzt in breiten soliden Zellmassen, die oft an nicht verhornendes Plattenepithel erinnern.

Primärtumor 23 zeigt mikroskopisch fast nur solide Zellstränge, besonders im Zentrum, während an der Peripherie mehr gyrusartiges Wachstum und Cystenbildung sich vorfindet, ein Bild, wie es bei Primärtumor 24 und 25 wieder ausgesprochen hervortritt: kleine epitheliale Hohlräume, die eine homogene leicht mit Eosin gefärbte Masse enthalten; daneben auch größere Hohlräume mit Blut, die vielfach in gesonderten Bezirken zusammenliegen. In den äußeren Partien von Schnitt 24 treten Zellgruppen hervor, die an das Zylindrom der menschlichen Speicheldrüsen erinnern. Vielfach sieht das Epithel auch hier ganz wie ein nicht verhornendes Plattenepithel aus, allerdings sind keine Protoplasmafasern nachweisbar. (Vgl. Gierke Tafel XVIII). In Tumor 25 sind die cystischen, epithelialen Hohlräume besonders zahlreich vorhanden, daneben findet man auch breite bindegewebige Züge, die an vielen Stellen reichlich Blutpigment enthaltende Zellen führen. Primärtumor 26 ist mit 25 histologisch fast identisch, während bei Primärtumor 28 Partien mit solidem gyrusartigen Wachstum mit solchen, die reichlich Cysten aufweisen, abwechseln. Eine große Cyste von etwa 1 cm Durchmesser im Innern von hyalinen eosingefärbten Massen ausgefüllt, fällt besonders auf.

Wir versuchten schon zu Anfang des Jahres 1906, als das endemische Auftreten des hämorrhagischen Tumors in unserer Zucht auffallender wurde, den Tumor durch Überimpfung auf andere Tiere fortzupflanzen. Mäusetumoren waren ja bis dahin schon vielfach mit Erfolg überimpft worden. Schon 1894 hatte Morau in dieser Beziehung die ersten Erfolge aufzuweisen und 1903 veröffentlichte Jensen seine umfangreichen Impfversuche, die hauptsächlich bewiesen, daß die Intaktheit der Tumorzellen im Impfmaterial für die Übertragung eines Tumors unbedingt notwendig sei; endlich hatte

auch Borrel bereits von endemischem Auftreten von Mäusetumoren berichtet.

Wir versuchten verschiedene Impfmethoden. Einzelnen Mäusen wurden kleine frische Stückchen vom Tumorgewebe mit steriler Pinzette unter die Haut geschoben. Wir stellten Verreibungen von Tumormaterial mit physiologischer Kochsalzlösung her und spritzten diese subkutan, intraperitoneal und intrapleural ein. Besondere Sorgfalt verwandten wir auf eine abdominale Implantation größerer Teile. Um möglichst günstige Wundverhältnisse und Heilung per primam sicher zu erzielen, wurde die Haut in der Flanke der Maus möglichst dorsal und parallel der Mittellinie etwa 1,5 cm lang durchtrennt, dann bis etwa nach der Mitte des Bauches subkutan 2 cm vorgegangen, hier die Bauchmuskulatur mit Pinzetten stumpf in der Längsrichtung durchtrennt und das Impfstück eingeschoben und darauf die Hautwunde durch Naht geschlossen. Auf diese Weise kann man beträchtlich große Tumorteile gut peritoneal implantieren, es tritt keinerlei Hernienbildung ein und die Naht ist gegen Verunreinigung nach Möglichkeit geschützt. Wir impften in dieser ersten Serie im ganzen 27 Mäuse von 5 hämorrhagischen Spontantumoren. Der Erfolg blieb aus und wir gaben unsere Versuche zunächst als aussichtslos auf, zumal auch von anderer Seite, besonders durch die Arbeiten aus dem Institut für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M. 1906, die dauernde Überimpfbarkeit hämorrhagischer Karzinome überhaupt in Frage gestellt wurde. Noch in seinem Referat über die Genese des Karzinoms (Verhandlungen der pathol. deutsch. Gesellschaft 1908) bezeichnet Ehrlich das Cystocarcinom haemorrhagicum der Mäuse als sehr schwer übertragbar und erwähnt, daß ihm nur in einem Fall eine Übertragung gelungen sei.

Die Erfolge der Bashfordschen Schule, die Veröffentlichungen von Hertwig und Poll und die Arbeit Gierkes über das englische hämorrhagische Mäusekarzinom ließen uns in diesem Frühjahr Impfversuche mit unserem endemischen

Tumor aufs neue beginnen. Es bot sich uns eine günstige Gelegenheit:

Ende Februar wurde bei einer Maus (TM: Ia) ein etwa walnußgroßer Tumor der rechten Axillargegend gefunden, und da diese Geschwulst bei einer wenige Wochen vorher stattgefundenen Revision der Mäuse nicht aufgefallen war, so mußten wir annehmen, daß es sich um ein sehr kräftig und rasch wachsendes Karzinom handelte. Bei der operativen Entfernung ergab sich, daß der Tumor mit der seitlichen Brustwand so fest verwachsen war, daß er auf stumpfem Wege ohne starke Blutung nicht lospräpariert werden konnte; wir zogen es daher vor, eine Massenligatur um die Basis zu legen und mit Schnitt abzutragen. Das Tier überstand die Operation. Der Tumor wurde alsbald in steriler warmer physiologischer Kochsalzlösung mit der Schere in möglichst kleine Stückchen zerteilt und diese mit der Pinzette bei 30 Mäusen in der linken Inguinalgegend tief unter die Bauchhaut eingeschoben. Nach 10 Tagen konnte man die eingeimpften Stückchen bei den meisten Tieren noch gut abtasten; eine Vergrößerung derselben oder Entzündung war nicht wahrzunehmen. Nach 3 Wochen ließ sich bei 4 von den geimpften Mäusen ein sicheres Weiterwachsen des eingebrachten Tumorstückchens konstatieren, während bei den übrigen durch Palpation nichts mehr nachzuweisen war. Bei 3 Mäusen: IIb, IIIb, IVb entstanden linksseitige Tumoren der Brustwand, bei einer Vb ein linksseitiger Inguinaltumor. Nach weiteren 3 Wochen waren diese Geschwülste etwa haselnußgroß herangewachsen, gleichzeitig bildete sich bei der operierten Ausgangsmaus ein rasch wachsendes lokales Rezidiv und außerdem ein Tumor der gleichseitigen Massetergegend; letzterer darf vielleicht als Metastase aufgefaßt werden, zumal eine spätere Sektion ergab, daß sich auch in der rechten Lunge eine große Metastase entwickelt hatte.

Die erste Übertragung war demnach in 13 % der überimpften Tiere gelungen und es handelte sich nun darum, festzustellen, ob die erzeugten Tumoren wiederum dem hämor-

rhagischen Typus angehörten oder ihre Art geändert hatten und ob eine weitere Übertragung auf frische Mäuse möglich war, denn es wurden bekanntlich wiederholt bei Mäusen hämorrhagische Tumoren beobachtet, die sich nur in einer Generation überimpfen ließen.

In dem Laboratorium der Imperial Cancer Research zu London wurden nach Gierkes Bericht bei der Überimpfung von 47 hämorrhagischen Spontankarzinomen folgende Resultate erzielt: 38 konnten überhaupt weitergeimpft werden, davon erloschen 8 in der ersten Generation, 5 in der zweiten und 2 in der dritten. Im ganzen ergaben sich bei ungefähr 4500 geimpften Mäusen 251 Impftumoren = 5,5 %. Bei Hertwig und Poll finde ich folgende Angaben: Von 3 hämorrhagischen Cystokarzinomen gelang es durch Stückchenimpfung 1 fortzuzüchten. Die Weiterimpfung wurde in 6 Generationen mit Erfolg durchgeführt, dabei stieg die Kurve der Gesamtimpfausbeute langsam, aber stetig von 9 auf 30 % um dann langsam wieder abzusinken. Der hämorrhagische Primärtumor, welcher den Ausgang für die Untersuchungen von Hertwig und Poll darstellt, fand sich bei einer weißen Maus, die noch eine 2. hämorrhagische Krebsgeschwulst aufwies, welche jedoch nicht übertragen werden konnte.

Bei meinen Impftumormäusen IIb, IIIb und IVb wurden die Geschwülste auf operativem Wege entnommen und dabei festgestellt, daß sie im Gegensatz zu dem Ausgangstumor ohne Unterbindung sich leicht herausschälen ließen, da sie nur in lockerem Bindegewebe eingebettet saßen. Leider gingen später 2 der operierten Mäuse durch einen unglücklichen Zufall zugrunde, eine blieb am Leben und wurde zur Nachzucht verwandt.

Von Tumor IIb wurden 20 Mäuse geimpft und zwar 10 nach der Ehrlichschen Methode subkutan unter Verwendung von Tumorbrei mit Glaskapillaren in der Axillargegend; es wuchs ein Tumor VIc = 10 %. 10 Mäusen wurden subkutan größere Stückchen mit der Pinzette eingebracht, 3 (VIIc,

VIIIc, IXc) = 30 % wuchsen an. Von Tumor IIIb wurden 20 Mäuse in der Weise geimpft, daß mehrere kleine Stückchen subkutan eingebracht wurden. Es blieben nur 12 der geimpften Mäuse am Leben, aber bei 4 von diesen, also in 33 % entstanden Tumoren, XIIIc, XIVc, XVc, XVIc, bei einigen sogar gleichzeitig mehrere, so hatte z. B. Maus XIII gleichzeitig 3 hämorrhagische Tumoren.

Hiernach erschien uns das Einbringen von kleinen Tumorstückchen als eine weit vorteilhaftere Impfmethode und wir übten in Zukunft nur noch diese aus. Da die hämorrhagischen Carcinome, wie histologische Untersuchung zeigt, frühzeitig große Partien nekrotisierten = nicht mehr wachstumsfähigen Gewebes und außerdem viele Cysten mit serösem, gallertigem oder blutigem Inhalt aufweisen, so muß notgedrungen die Einimpfung von Tumorbrei ungünstigere Resultate ergeben, weil hierbei sicherlich eine ganze Anzahl der Tiere nur mit mehrweniger totem Gewebe geimpft wird; zerschneide ich dagegen den Tumor mit der Schere in warmer physiologischer Kochsalzlösung, so wird Cysteninhalt und Blut abgespült und es ist bei einiger Übung nicht allzu schwer, lebenskräftige Tumorteile von nekrotischen (die mit dem Skalpell leicht abgestrichen werden können) zu trennen und erstere allein zur Impfung zu verwenden. Zur Einführung der Tumorstückchen bedienten wir uns fortan einer dicken Lumbalpunktionsnadel mit genau passendem Mandrin. Durch Zurückziehen des Mandrins lassen sich Tumorgewebstückchen, deren Durchmesser weit größer ist als die lichte Nadelweite noch einsaugen und nach Einschieben der Nadel unter die Haut durch Vorschieben des Mandrins gut deponieren. Wichtig ist vor allem, daß man nur nichtinfizierte, noch von gesunder Haut bedeckte Tumoren aseptisch verarbeitet; da die schnellwüchsigen Tumoren oft sehr bald durchbrechen und ulzerieren, haben wir ohne Rücksicht auf die Erhöhung der Virulenz — die nach Ehrlich und den übrigen Autoren durch die jeweilige Weiterimpfung der am raschesten gewachsenen Tumoren einer Serie besonders

gefördert wird — langsam wachsende und gut erhaltene Tumoren zur Weiterimpfung gewählt. Um das gleichzeitige Anwachsen von mehreren Geschwülsten bei derselben Maus zu unterstützen, wurden die Impfstückchen an verschiedenen Stellen des subkutanen Impfstiches ausgestoßen oder auch durch Massieren im Stichkanal verteilt (vgl. Fig. 3). Unsere Impfdosis, berechnet aus dem Hohlraum der Nadel und der Länge der mit Tumorstückchen gefüllten Partie derselben, schwankte zwischen 0,015 und 0,025 ccm.

In der letztbeschriebenen Weise wurden von dem oben erwähnten lokalen Rezidiv der Spontantumormaus Ia nochmals 10 Mäuse geimpft. Diesmal war die Ausbeute weit größer als bei der ersten Überimpfung, denn bei 3 Mäusen also in 30 % (gegenüber 13 %) ging die Übertragung an = Xb, XIb, XIIb. 2 Mäuse, welche mit dem neu entstandenen, am Kiefer sitzenden Tumor derselben Maus geimpft wurden, ergaben kein positives Resultat.

Nunmehr war leider unser Bestand an Impfmäusen aus eigener Zucht erschöpft und ich mußte für Weiterimpfung Mäuse aus andern Laboratorien hier in Freiburg beziehen. Ich erhielt Impfmäuse aus der Universitätsaugenklinik, der psychiatrischen Klinik der Universität und dem pathol. Universitätsinstitut. Die Zuchtstämme der beiden erstgenannten stammten ursprünglich von dem unsrigen ab, bei beiden wurden in den letzten Jahren eine beträchtliche Anzahl hämorrhagischer Spontankarzinome beobachtet. Die Mauszucht des pathol. Institutes ist von auswärts bezogen nnd hatte bisher noch keine Spontantumoren hervorgebracht.

Von Tumor VIIc wurden 16 Mäuse des pathologischen Instituts in der herkömmlichen Weise geimpft. Erfolg: 2 Tumoren. Von Tumormaus VIIIc wurden 14 Mäuse des pathologischen Instituts (mit 3 Tumoren als Ausbeute) implantiert. Es ergab sich also ein Prozentsatz von 12 resp. 21 % positiver Überimpfungen; ein Prozentsatz, der von demjenigen bei Verwendung unserer eigenen Zuchtmäuse nicht wesentlich abweicht. Von

Tumor XIId wurden 20 Mäuse aus der Zucht der Universitäts-augenklinik geimpft; bei 2 Mäusen, also in 10%, wurde Tumor-wachstum erzielt. Wir konnten demnach bei den beiden letzt-genannten Mäusetumoren ein etwa gleich gutes Angehen der hämorrhagischen Tumoren beobachten, obwohl der eine Stamm mit dem unseren jedenfalls nahe blutsverwandt ist und gleich-viel hämorrhagische Spontantumoren zeigt, der andere aber blutsfremd erscheint und kein Auftreten von Spotangeschwülsten zeitigt.

Eine merkwürdige Ausnahme machten nun aber die Mäuse der psychiatrischen Klinik, die im übrigen bezüglich Herkunft und Tumorbildung dem Zuchtstamm der Augenklinik gleich-zusetzen sind: von 37 analog geimpften Mäusen (siehe Tabelle) konnten wir keinen einzigen Tumor erzielen.

Einige Tumoren der Serie c und d hatte ich an das Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. ab-gegeben. Wie Herr Geh. Rat Ehrlich die Güte hatte mir mitzuteilen, wurde in Frankfurt bei Verwendung Berliner Zucht-mäuse bisher kein Weiterwachsen der Tumoren erzielt. Auch Gierke in Karlsruhe konnte aus Freiburg stammende hämor-rhagische primäre Cystokarzinome auf seinen Mäusen nicht überimpfen.

In der Literatur liegen bereits eine große Reihe von Be-obachtungen über den Einfluß von Mäuserasse, Stamm, Alter, Fütterung usw. auf die Impfausbeute bei Tumorübertragungen vor. So fand z. B. Bashford, daß junge 6—8 Wochen alte Mäuse sich für die Impfung am besten eignen; Lewin, der das gleiche konstatierte, sucht diese Erscheinung damit in Zu-sammenhang zu bringen, daß der Krebs des jugendlichen Alters besonders maligne zu sein pflegt. Ein sehr virulenter Tumor Jensens konnte von Michaelis auf Berliner Mäuse nicht übertragen werden, während Pappenheim die Übertragung auf einen Berliner Mäusestamm gelang. Ein Berliner Mäuse-tumor wuchs nicht in Kopenhagen auf einheimischen Mäusen, während wiederum ein Kopenhagener Tumor auf Pariser

Mäusen sich gut übertragen ließ. Besonders interessant ist, daß Frankfurter Mäuse nach Kopenhagen verschickt, dort zunächst für das Sarkom Jensens empfänglich waren, während die Kontrolltiere, welche 3 Monate in Kopenhagen gehalten waren, sich nunmehr dem gleichen Sarkom gegenüber als immun erwiesen. Die einzelnen Autoren machen die mannigfaltigsten Gründe für dies eigentümliche Verhalten geltend: Rasse, Ort, Haltung, Fütterung, Klima sollen auf die Empfänglichkeit für Tumorimpfungen von maßgebendem Einfluß sein. Bashford konnte durch sehr umfangreiche und exakte Untersuchungen feststellen, daß bei jeder Züchtung eines Tumors in vielen Generationen sich positive und negative Phasen des Tumorwachstums nachweisen lassen, und Hertwig und Poll weisen mit Recht darauf hin, daß diese Schwankungen in der Wachstumsenergie leicht zu Fehlschlüssen bei der Beurteilung der Empfänglichkeit verschiedener Mäusestämme für Tumorimplantationen Veranlassung geben können. Gierke sieht die verschieden große Tumorempfänglichkeit weniger in wirklichen Rassenunterschieden als in abweichenden Lebensverhältnissen und andere Ernährungsweise. Solche Unterschiede sind am ausgesprochensten bei Mäusen verschiedener Länder beobachtet, fehlen aber gelegentlich auch bei Zuchtanstalten desselben Ortes nicht. Wir können auf Grund der hiesigen Beobachtungen als neu feststellen, daß auch derselbe Mäusestamm an dem gleichen Ort gezüchtet, gegen Implantationen wesentlich andere Verhältnisse bieten kann, auch dann, wenn durch Kontrollimpfungen auf empfängliche Tiere der Nachweis des Fehlens einer negativen Phase des Geschwulstwachstums erbracht ist. Wir glauben deswegen vorerst jedem Erklärungsversuch dieser Eigentümlichkeiten ein non liquet entgegnen zu müssen.

Was das Alter unserer Impfmäusse anbelangt, so konnte darauf bei der immerhin beschränkten Anzahl der zur Verfügung stehenden Impftiere keine besondere Rücksicht genommen werden; wir impften junge und alte Mäuse ohne Unterschied; zuweilen schien es, als ob junge Individuen

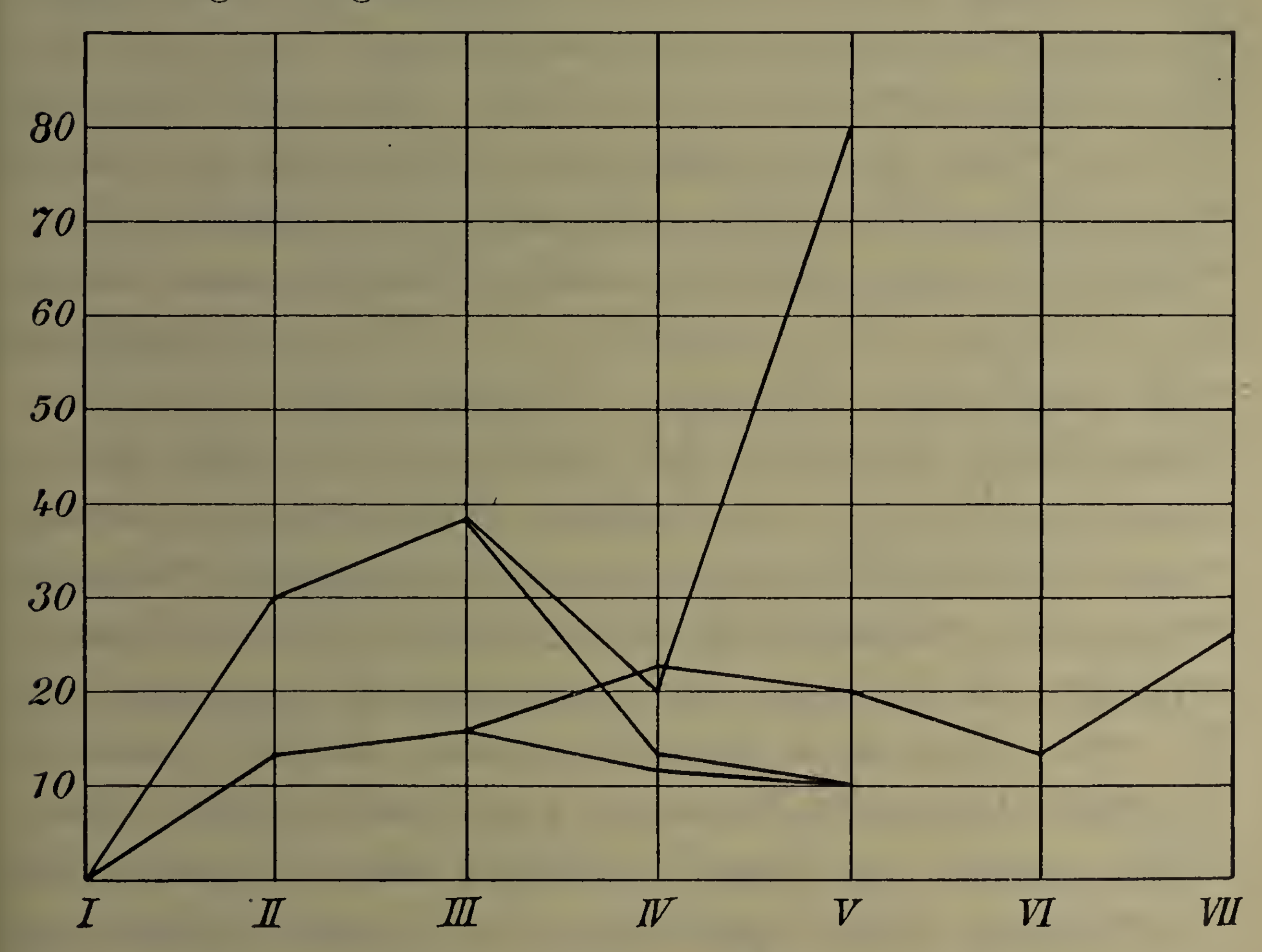
empfänglicher wären, ein Urteil können wir jedoch nicht abgeben.

Sehr wichtig mit Hinsicht auf zu erledigende Immunitätsversuche schien uns das spontane Zurückgehen von Impftumoren. Hier muß zunächst bemerkt werden, daß unser Tumor durchschnittlich erst nach einer Inkubationszeit von 3 Wochen zu wachsen begann. Zuweilen trat allerdings schon 8 Tage nach der Impfung eine deutliche Anschwellung an der Impfstelle bis zu etwa Erbsengröße auf, aber hier handelte es sich dann um eine Abszeßbildung, die leicht daran schon äußerlich zu erkennen war, daß bei Anfeuchten der Haare der Inhalt deutlich gelb durchschimmerte und nicht wie bei den echten Tumoren eine grau-rötliche oder direkt hämorrhagische Farbe zeigte. Beim Einschneiden entleeren die Abszesse einen gelben dickrahmigen Eiter und ein nachträgliches Tumorwachstum fand bei solchen Mäusen niemals statt. Die Abszesse brechen gewöhnlich spontan nach außen durch, nach 24 Stunden sieht man an der Stelle, der ursprünglichen Verdickung, nur noch eine verklebte Narbe. Wurde bei einer Maus ein wirkliches Wachstum des eingebrachten Tumorstückchens konstatiert (s. Verzeichnis), so gingen zwar auch die Tumoren zuweilen zurück, aber dies Zurückgehen fand dann ganz allmählich im Verlauf von Wochen statt, niemals konnten wir wie Michaelis konstatieren, daß ein angewachsener Tumor innerhalb 24 Stunden unter Ulzeration der Haut ausgestoßen wurde. Bekanntlich ist für das Zurückgehen einzelner tierischer Geschwülste die Behauptung aufgestellt worden, daß eine Thrombosierung der Blutgefäße (s. v. Dungern) die Resorption einleite und bedinge. Herr Professor Goldmann hatte die Liebenswürdigkeit, an einigen meiner Impfmäuse mit sicher in Rückbildung begriffenen Impf- und Spontantumoren, die Injektion der Blutgefäße mit Tusche auszuführen. Durch dieses Verfahren ließ sich keinerlei Verminderung der Blutversorgung bei spontan zurückgehendem hämorrhagischen Karzinom erkennen. Es müssen hier also ganz andere Momente

für die Rückbildung des Tumorgewebes in Betracht kommen, als es nach v. Dungern z. B. bei der Resorption des Hasensarkoms der Fall ist.

An 2 Mäusen mit zurückgehendem hämorrhagischen Cystokarzinom wurde auch der Versuch gemacht, auf operativem Wege ein wieder Weiterwachsen des Tumors zu erzielen. Loeb hatte festgestellt, daß man durch aseptisches Anschneiden oder dadurch, daß man einen Unterbindungsfaden in den Tumor legte, wachstumsanregend wirken könne. In unsern Fällen war die Unterbindung ohne sichtbaren Erfolg, während eine aseptische Zerstückelung des Tumors wieder zum Wachstum anregte, allerdings war in letzterem Falle die Resorption noch nicht so weit vorgeschritten wie im ersten.

Die graphische Darstellung unserer Impferfolge in Prozenten ergibt folgendes Bild:



Die Kurve ist nur soweit ausgeführt, als die gut empfänglichen Mäuse aus unserer eigenen Zucht, dem pathologischen Institut und der Universitätsaugenklinik zur Verwendung kamen. Durchgehends zeigt sich in der dritten Generation ein gewisser

Höhepunkt der Impfausbeute (positive Phase), dann aber ein allmähliches Herabgehen der Prozentzahl. Wie schon Bashford in seinen Untersuchungen festgelegt hat, kann die Berechnung der Prozentzahl angegangener Tumoren nur dann einen gewissen Wert haben, wenn gleichzeitig eine größere Anzahl Mäuse in einer Serie geimpft werden (mindestens 10). Dies vorausgesetzt, glauben wir, daß bei aller Sorgfalt in der Auswahl und Technik sich die Virulenz der hämorrhagischen Cystokarzinome niemals auf die Höhe wird steigern lassen, wie sie die übrigen aus solidem Gewebe bestehenden Mäusetumoren aufweisen, denn es ist praktisch ausgeschlossen, bei ausgedehnter Cysten- und Nekrosenbildung ein vollständig gleichwertiges Impfmaterial zu gewinnen.

Bei dieser Gelegenheit möchte ich noch auf einen Umstand hinweisen, auf den mich mein verehrter Lehrer, Herr Geh. Rat Schottelius, hingewiesen hat und der, soweit ich die Literatur überschauen kann, bisher noch nicht bei den Tumorimpfungen berücksichtigt wurde: den Einfluß der Jahreszeit auf biologische Vorgänge. Schottelius konnte besonders drastisch bei seiner Züchtung steriler Hühnchen nachweisen, daß im Frühjahr die Lebenskraft und die Widerstandsfähigkeit steril ausgebrüteter Hühnchen viel größer war als in den übrigen Zeiten des Jahres: das Experiment der sterilen Züchtung gelang bisher nur im Frühjahr. Wir möchten auf Grund unserer diesjährigen Übertragungsversuche an im ganzen 450 Impfmäuse es für wahrscheinlich erachten, daß auch für die Tumorimpfungen die Frühjahrs- und Sommerszeit die günstigste ist. Es wurde schon oben darauf hingewiesen, daß die Tumoren der zweiten Generation sich operativ sehr gut ausschälen ließen. Leider wurden nun diese Verhältnisse mit der Anzahl der Übertragungen immer ungünstiger; die Tumoren infiltrierten fast regelmäßig auch schon in frühen Stadien die Brust- und Bauchmuskulatur, so daß eine vollständige Entfernung unmöglich war: Rezidive an der Operationsstelle, Einwachsen in die Bauchhöhle waren die häufige Folge. Dies war der Grund,

der uns in neuerer Zeit von der Impfung subkutan am Bauch abgehen und die Rückenhaut als Impfstelle wählen ließ, wenngleich dadurch nach Bashford die Aussichten bezüglich Impfausbeute ungünstiger wurden *).

Das Auftreten von Metastasenbildung war außerordentlich von der Zeit, welche die Tumormäuse am Leben blieben, abhängig, eine Beobachtung, die schon wiederholt in der Literatur Erwähnung fand. Es wurden zwar mitunter auch schon nach 5—6 Wochen makroskopisch Metastasen gefunden, meist aber erst bei älteren Tumormäusen, und zwar besonders dann, wenn der erste Tumor durch Operation entfernt und ein lokales Rezidiv eingetreten war. Die Metastasen bestanden meist in kleinen grauen Knötchen der Lungen, zuweilen waren aber auch ganze Lungenlappen von Metastasen eingenommen. In einigen daraufhin untersuchten Fällen konnten wir uns von den durch Haaland zuerst gefundenen mikroskopischen Lungenmetastasen überzeugen. Einmal wurde als Ausnahme eine Metastase in der linken Axilla gefunden (s. Fig. 5).

Die histologische Untersuchung von Schnitten der Impftumoren hatten bei den verschiedenen Übertragungsserien folgendes Ergebnis:

In der I. Übertragung (2. Generation Tumor 2b—4b) sind nur noch in einem geringen Teil des Tumors gyrusartiges Wachstum und Hohlraumbildungen, wie es bei den Primärtumoren so ausgesprochen hervortritt, vorhanden; statt dessen wächst das Epithel in breiten kräftigen, soliden Zellsträngen. Die Neigung zur Nekrosenbildung erscheint vermehrt, so ist z. B. Tumor IVb im Innern vollständig nekrotisert.

In der II. Übertragung (3. Generation Tumor VIIIc; XXIIIc; XXVc und XXVIc) ergeben sich mikroskopisch ganz ähnliche Bilder. Bei XXVc und XXVIc besteht der

*) Ein großer Nachteil der Rückenimpfung besteht nach unserer Erfahrung darin, daß die Rückentumoren viel leichter Verletzungen und damit Ulzerationen ausgesetzt sind, da die Träger die Größe der Geschwülste nicht zu schätzen wissen und beim Durchkriechen durch enge Löcher leicht anstoßen.

stark durchblutete Tumor aus dicht gelagerten Zellsträngen, nur vereinzelt sieht man Hohlräume mit eosingefärbten Sekretmassen gefüllt, auftreten. Auch XXIIIc hat im allgemeinen einen gleichen histologischen Aufbau. Er macht zunächst den Eindruck eines Plattenepithelkrebses, bietet aber daneben noch



Fig. 8. Schnitt aus Impftumor XXIII c. Vergr. 60.

neue sehr interessante Erscheinungen: an verschiedenen Stellen sind nämlich Bildungen vorhanden, die man in ganz der gleichen Weise bei den sog. **Peritheliomen** des Menschen findet und für diese Tumoren als charakteristisch erachtet; es zeigen sich Blutkapillaren und diesen direkt aufsitzend ein Epithelzellenmantel, dessen Zellen eine ausgesprochen radiäre Anordnung aufweisen. Vgl. Fig. 6 u. 8.

Ganz abweichend verhält sich der histologische Aufbau bei VIII c, einem Tumor, der ebenfalls aus der 3. Generation stammt und nach der Exzision sehr rasch rezidivierte. Hier ist wieder ein vollständiger Rückschlag auf den Primärtumor zu konstatieren, nur an einzelnen Stellen sind solide Zell-

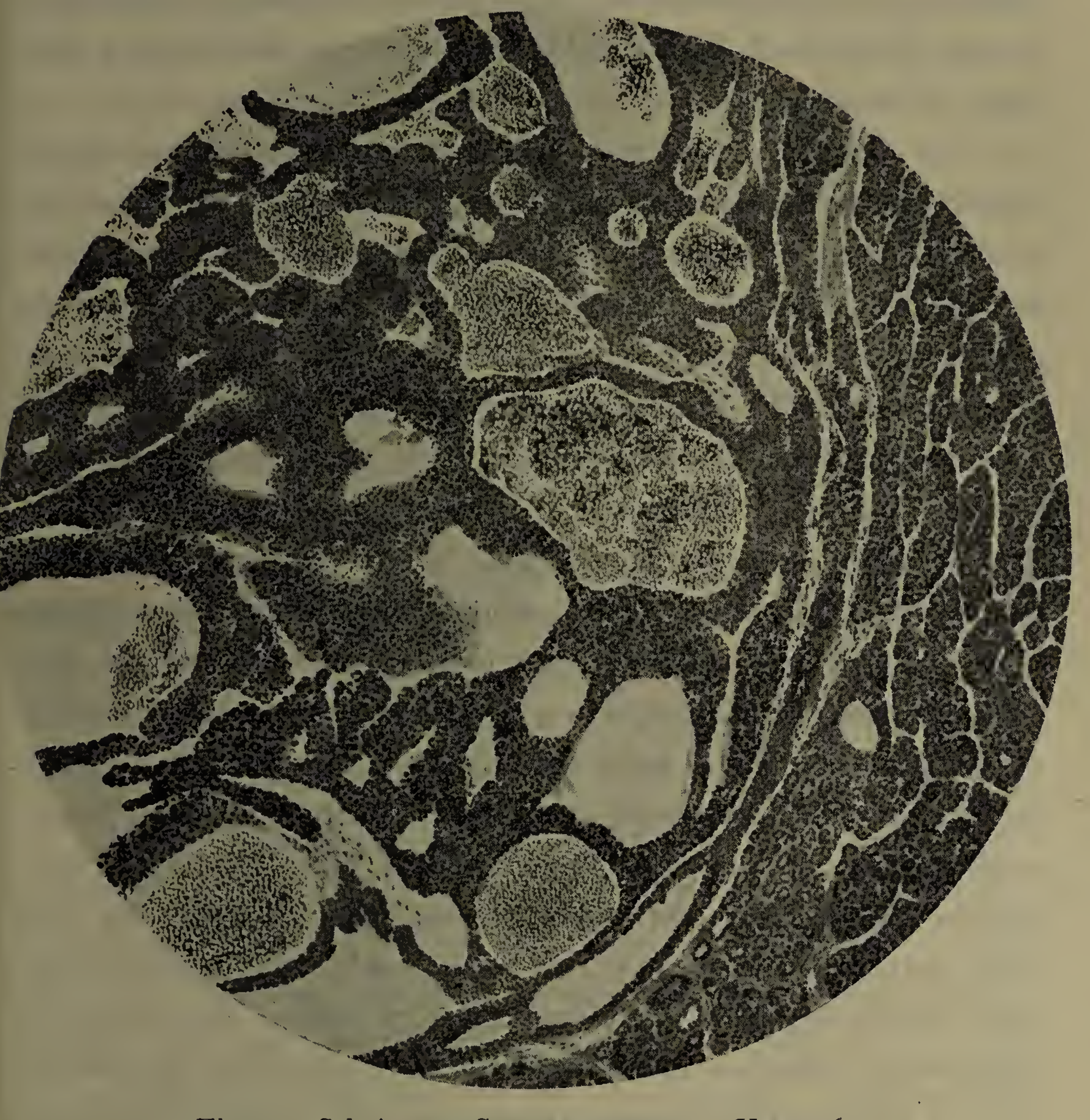


Fig. 9. Schnitt aus Spontantumor 22. Vergr. 60.

wucherungen zu erkennen, dagegen viele gyrusartige Bildungen und zahlreiche sekret- und blutgefüllte Hohlräume.

In der III. Übertragung sieht man bei Tumor XXVIII d (4. Generation) teils dicht nebeneinanderliegende mehrschichtige Zellzüge, die vielfach zur Bildung schmaler, kleiner Hohlräume neigen, teils zahlreiche große Hohlräume, wie sie auch in den

Primärtumoren konstatiert werden. Bei Tumor XXVII d sind nur noch breite, solide Epithelwucherungen vorhanden, keine Hohlraumbildung, aber ausgedehnte Nekrose. Cysten, die von einem mehrschichtigen Epithel ausgekleidet sind, bergen in ihrem Innern nekrotische Massen, sind also keine eigentlichen Bildungen des Epithels, sondern durch Nekrosen, entstanden. Tumor XX d und XXI d (III. Übertragung) bieten ganz ähnliche Verhältnisse.

In der IV. Übertragung, mit deren Untersuchung meine histologischen Studien, bei denen Herr Privatdozent Dr. Schridde mich in liebenswürdiger Weise unterstützte, zurzeit abschließen, kann man bei Tumor XXXII e—XXXVI e nur noch sehr dicht gelagerte Zellwucherungen erkennen, die nur hie und da noch an drüsenartige Bildungen erinnernde Bezirke aufweisen. Hohlräume sind hier nicht mehr gebildet, doch zeigt sich eine starke Neigung zu Blutungen.

Erwähnt sei hier noch, daß bei der Übertragung eines zweiten Primärtumors (Nr. 27) eines ebenfalls typischen hämorrhagischen Cystokarzinoms schon in der 2. Generation ein ausausgeprägt solider Tumor hervorwuchs: dicht aneinanderliegende solide Zellstränge, die ganz den Eindruck eines Plattenepithelkrebses (ohne Verhornung) machen. Zwischen den Plattenepithelzellen sind keine Hohlräume und keine Blutungen vorhanden (XXXI b). Bei der gleichen Maus bildete sich, wie oben bereits erwähnt, ein Tumor in der Bauchhöhle aus, der etwa haselnußgroß in der Gegend der Symphyse der seitlichen Bauchwand anhaftete und durchaus von Peritoneum überkleidet war; in diesem Bauchtumor treten nun die soliden Zellstränge vollkommen zurück, hier herrscht ausschließlich ein gyrusartiges Wachstum, aber nirgends drüsige Bildungen, Cysten fehlen vollkommen.

Aus der Gesamtheit der histologischen Bilder ergibt sich — wenn man die Beobachtung VIII c als einzige Ausnahme ausschaltet — daß bei jeder weiteren Übertragung der Zellreichtum immer mehr zunimmt und die Hohlraumbildung

zurückgeht. Das gyrusartige Wachstum und die Cystenbildung kann sogar vollkommen schwinden. Dem histologischen Bilde entsprechend müßte das Wachstum dieser Impfgeschwulst in der Entfernung vom Primärtumor nach und nach znnehmen. Da eine genaue Messung und Wägung der einzelnen erzielten Impftumoren nicht durchgeführt wurde, so kann diese Annahme nicht zahlenmäßig bestätigt werden, doch entspricht es dem Gesamteindruck, welchen das Tumorwachstum der verschiedenen Generationen macht. Bemerkenswert ist, daß die Impftumoren sich histologisch ganz ähnlich verhalten wie die Metastasen bei menschlichen Karzinomen. Auch hier weisen die vom Primärtumor direkt gesetzten Metastasen die größte Ähnlichkeit mit ihm auf, während die Tochtergeschwülste von Metastasen mehr und mehr den Bau der Primärgeschwulst aufgeben, vielfach weit zellreicher als diese sind und auch entsprechend schneller wachsen.

Von besonderem Interesse scheint auch die Beobachtung bei XXIII c und XXI d: hier zeigten sich, wie erwähnt, in dem Karzinomgewebe Epithelbildungen, die aufs überraschendste den Bildern gleichen, die man beim Menschen als typisch für das sog. Peritheliom hinstellt.

Wir implantierten für gewöhnlich nur ganz frisches Tumormaterial. doch ließen wir versuchsweise die zur Verimpfung bestimmten Tumoren bis zu 24 Stunden abkühlen. Ehrlich sieht die Besonderheit der hämorrhagischen Cystokarzinome ebenso wie die des hämorrhagischen Chondroms in einer chemotaktischen Wirkung auf die Angioplasten, die ein frühzeitiges mächtiges Hineinsprossen von Kapillaren bedingen. Da nun diese Beeinflussung der Angioblasten besonders leicht leidet (z. B. durch Kälte oder partielle Immunität des Versuchstieres), so sieht Ehrlich darin auch die Ursache für den häufig negativen Impfausfall bei dieser Form der Karzinome Unsere bisherigen Versuche mit abgekühltem Tumormaterial gestatten zur Zeit noch keinen Schluß zu ziehen.

Bei 14 Mäusen, die bei der ersten Impfung keinen Tumor entwickelt hatten, ging auch bei der zweiten Implantation kein einziger Tumor an.

Bei 8 Tumormäusen wurde der Versuch gemacht, durch eine Nachimpfung mit Preßsaft aus zerriebenen hämorrhagischen Tumoren eine anaphylaktische Reaktion auszulösen. 4 Mäuse wurden subkutan, 4 peritoneal injiziert: es ergaben sich keinerlei klinische Krankheitserscheinungen oder Lokalreaktionen.

Nach der Methode Goldmanns haben wir auch an 2 Tumormäusen XXVc und XXVIc eine vitale Färbung mit Isamin versucht. Das Isamin wurde in 1 %iger wässeriger Lösung angewandt und subkutan oder peritoneal jeweils in einer Menge von 1 ccm den Mäusen injiziert. Maus XXVc erhielt im ganzen 3 ccm innerhalb 7 Tagen, XXVIc 4 ccm in 5 Tagen. Zunächst zeigte sich die schon von Goldmann festgelegte Tatsache, daß alles injizierte Isamin bei einer Tumormaus zunächst in den Tumor wandert, erst wenn dieser tiefblau erscheint, beginnt auch der übrige Körper allmählich Farbe anzunehmen. Maus XXVc zeigte bei der Sektion reichlich Metastasen der Lungen; obwohl nun der Haupttumor dieser Maus gut gefärbt war, blieben die Metastasen farbfrei, ein Umstand, der wohl in dem geringeren reaktiven Reiz, welchen die Metastasierungen setzen, seine Erklärung findet. In dem Haupttumor waren isamingefärbte, Granula tragende Zellen nur in dem bindegewebigem Stroma zu sehen. Die spezifischen Karzinomzellen blieben farbfrei.

Wohl zu den interessantesten und wichigsten Studien in der ganzen Krebsforschung gehören diejenigen über die Ätiologie des Krebses. Während in den letzten Jahren über Histologie und Immunität bei Krebs mancherlei Aufklärung geschaffen wurde, stehen sich die Ansichten der bedeutendsten Autoren in ätiologischen Fragen vielfach noch diametral gegenüber: Hansemann findet keine logische Notwendigkeit für die Annahme eines Krebserregers und sieht die Überimpfung als Transplantation, nicht als Infektion an; er hält die Ent-

stehung des Krebses für eine Folge der Wechselwirkung zwischen Reiz und Reizbarkeit der Zelle. Nach Orth hängt die Parasitentheorie des Krebses vollkommen in der Luft und ist für die Erklärung der Krebsbildung unnötig; Ribbert endlich spricht sich ebenfalls gegen eine Parasitentheorie aus und erblickt in der subepithelialen entzündlichen zelligen Umwandlung des Bindegewebes die Ursache der krebsigen Epithelwucherung. Wie dem auch sei, es kann nicht verschwiegen werden, daß alle diese Ansichten nicht voll befriedigen, unaufgeklärt bleibt immer der Reiz selbst, der die atypische maligne Zellwucherung veranlassen soll und der die Epithelzellen aus dem Organgefüge des Körpers sich freimachen und selbst parasitäre Eigenschaften annehmen läßt. Es stehen deshalb auch den Autoren, die einer parasitären Theorie der Krebsentstehung glauben entbehren zu können, eine große Anzahl anderer, an ihrer Spitze Leyden, gegenüber, welche die Ansicht vertreten, daß nur durch einen Parasiten der Krebs erklärt werden könne. Alle Übertragungsversuche, alle histologischen, bakteriologischen und protozoologischen Untersuchungen haben bisher die Frage der Krebsentstehung nicht zu klären vermocht und es ist deshalb in letzten Jahren wiederholt die Forderung aufgestellt worden, durch genaue statistische Erhebungen über die Krebskrankheit des Menschen und durch bestimmte zielbewußte Züchtungsversuche bei Krebs der Tiere weitere Aufklärung zu verschaffen. Überall dort, wo ein endemisches Auftreten von Krebs bei Mensch oder Tier zu konstatieren war, erschien natürlich ein Arbeiten in ätiologischem Sinne besonders aussichtsreich. So liegen z. B. über das endemische Auftreten des Mäusekrebses, welches gar nicht so selten konstatiert wird, schon verschiedene statistische und experimentelle Studien vor. Hier sei nur kurz auf die Versuche Bashfords und Jensens, welche die Züchtung von Tumormäusefamilien bezwecken, hingewiesen. Da unsere eigenen Versuche durch Züchtung aus Spontan- oder Impftumormäusen einerseits, aus geheilten Tumormäusen andererseits ein Mäuse-

stamm mit veränderten Tumorimmunitätsverhältnissen bzw. ein gehäuftes Auftreten von Spontantumoren zu erzielen, Versuche, die natürlich eine längere Zeit in Anspruch nehmen, noch nicht abgeschlossen sind, so bleibe die ausführliche Erörterung dieser Frage einer späteren Veröffentlichung vorbehalten.

Verzeichnis der mit Cystocarcinoma haemorrhagicum geimpften weißen Mäuse.

Nr.	Datum	Herkunft der Impftiere	Ausgang	Ort	Anzahl	Ausbeute an Tumoren
1—27	1906—1908	E. Z.	1—21	v.	27	0
28—57	27. II. 09	„	22	Bauch	30	4
58—77	16. V.	„	IIb	„	20	4
78—97	29. V.	„	IIIb	„	20	4
98—107	29. V.	„	IVb	„	10	1
108—119	29. V.	„	22 Rezidiv	„	12	3
120—133	16. VII.	„	VIIIc	„	14	2
134—141	28. VII.	„	VIc	„	9	0
142—158	16. VII.	„	IXc	„	16	0
159—174	28. VII.	„	VIIc	„	16	2
175—181	15. VIII.	„	VIIIc Rez.	„	7	2
182—195	15. VIII.	Path. Institut Nachimpfung	23	„	14	0
196—215	7. IX.	E. Z.	XIIXd	„	20	4
216—235	7. IX.	„	XIXd	„	20	4
236—245	10. IX.	Augenklinik	24	„	10	1
246—255	10. IX.	„	25	„	10	0
256—268	13. IX.	E. Z.	XXIIIc	„	14	2
269—278	20. IX.	Augenklinik	26	„	10	0
279—293	20. IX.	E. Z.	XXVc	„	15	3
294—296	7. IX.	Tumor-Junge	27	„	3	1
297—305	7. IX.	„ „	XVIIId	„	9	1
306—325	24. IX.	Augenklinik	XXd	„	20	2
326—335	3. X.	Psych. Klinik	XXIXd	„	10	0
336—352	13. X.	„ „	XXXII—XXXIIIe	„	17	0
353—359	18. X.	E. Z.	XXXIVe	Rücken	7	1
360—364	23. X.	„	XXXIb	„	5	0 kalt
465—370	23. X.	„	XXXb	„	6	0 „
371—373	30. X.	Tumor-Junge	Metast. 28	„	3	0 „
374—376	30. X.	„ „	„ 28	„	3 Bastard	0 „
377—398	8. XI.	Path. Inst.	XLIVd	„	22	2
399—408	8. XI.	E. Z.	XLVd	„	10	8
409—423	11. XI.	Augenklinik	XXXIVe	Bauch	15	2 kalt
424—444	6. XII.	„	XLIXf	Rücken	21	5
445—459	7. I. 1910	E. Z.	LXIIe	Bauch	15	6
460—469	7. I. 1910	Nuller. Aug.-Klin.	LXIIe	peritoneal	10	0

E. Z. = Eigenzucht; Ausgang = Herkunft des Tumor-Impfmaterials; kalt = Impfmaterial 24 Stunden im Eisschrank aufbewahrt.

Literaturverzeichnis.

Baesluk, Über Metastasenbildung bei Adenokarzinom der Mäuse. Deutsche med. Wochenschr. 1905, Nr. 24.
Bashford, Murray, Cramer, The natural and induced resistance of mice to the growth of cancer. Ref. Zeitschr. f. Krebsforsch. 1908, S. 492.
Bashford, Murray und Bowen, Die experiment. Analyse des Karzinomwachstums. Zeitschr. f. Krebsf. 1907, S. 417.
Blumenthal, Die chemische Abartung der Zellen beim Krebs. Zeitschr. f. Krebsf. 1907.
Bridr, Recherches sur le cancer des souris. Ann. de l'Inst. Pasteur, Bd. XXI, H. 10.
Ders., Recherches sur le cancer experiment. de souris. Ann. de l'Inst. Pasteur, 1907.
Ehrlich, P., Experimentelle Studien an Mäusetumoren. Zeitschr. f. Krebsf. 1907, S. 59.
Ders., Referat über die Genese des Karzinoms. Verhandl. d. path. Ges. 1908.
Erdheim, Zur Morphologie der Mäusegeschwülste. Zeitschr. f. Krebsf. 1906, S. 33.
Haaland, Die Metastasenbildung bei transplantierten Sarkomen der Maus. Zeitschr. f. Krebsf. 1907, S. 122.
Ders., Les tumeurs des souris. Ann. de l'Inst. Pasteur 1905, Bd. XIX.
Ders., Beobachtungen über natürliche Geschwulstresistenz bei Mäusen. Berl. klin. Wochenschr. 1907.
v. Hansemann, Was wissen wir über die Ursache der bösartigen Geschwülste? Berl. klin. Wochenschr. 1905, Nr. 12 u. 13.
Henke, Zur path. Anatomie der Mäusekarzinome. Zeitschr. f. Krebsf. 1907, S. 112.
Hertwig und Poll, Zur Biologie der Mäusetumoren. Verlag Kgl. Akad. d. Wissensch. Berlin 1907.
Gierke, Beitrag zur pathol. Anatomie und zur allgem. Pathologie 1908, Bd. XLIII.
Ders., Der Einfluß der Herkunft oder Mäuserasse auf die Übertragbarkeit des Mäusekrebses. Verhandl. d. path. Ges. 1908.
Lewin, C., Experiment. Beiträge zur Morphologie und Biologie bösartiger Geschwülste bei Ratten und Mäusen. Zeitschr. f. Krebsf. 1908, S. 267.
Leyden, E. v., Über die parasitäre Theorie in der Ätiologie der Geschwülste. Berl. klin. Wochenschr. 1905, Nr. 13.
Loeb, L., Über einige Probleme der experimentellen Tumorforschung. Zeitschr. f. Krebsf. 1907, S. 453.
Ders., Über das endemische Vorkommen des Krebses bei Tieren. Centralbl. f. Bakt. 1909, Bd. XXXVI.
Ders., Further Observationes. Ref. Zeitschr. f. Krebsf. 1908, S. 500.
Loewenthal-Michaelis, Histiogenes der Impftumoren. Zeitschr. f. Krebsf. 1906, S. 639.
Michaelis, L., Versuche zur Erzielung einer Krebsimmunität bei Mäusen. Zeitschr. f. Krebsf. 1907.
Ders., Über den Krebs der Mäuse. Zeitschr. f. Krebsf. 1906.
Orth, J., Die Morphologie der Krebse und die parasitäre Theorie. Berl. klin. Wochenschr. 1905, Nr. 11 u. 12.
Ribbert, Die Entstehung des Karzinoms. Bonn 1905.
Sanfelice, F., Übertragbarkeit maligner Tumoren. Wiener med. Presse 1904, Nr. 42.

Lebenslauf.

Emil Küster, geboren am 11. April 1877 zu Wetzlar; besuchte die Rektoratsschule und darauf das Kgl. Gymnasium in Wetzlar; Maturitätsexamen daselbst am 7. März 1896. Studierte in Gießen S.-S. 1896 bis W.-S. 1897/98 incl. Veterinärmedizin und Medizin, dann in München und Würzburg S.-S. 1898 bis W.-S. 1900/01 incl. Medizin, um in Gießen S.-S. 1901 bis W.-S. 1902/03 die tierärztlichen Studien zu beenden. Das Tentamen physicum vet. bestand ich am 9. November 1897; die Approbation als Tierarzt erhielt ich am 17. Dezember 1902; wurde Assistent am hygienischen Institut der Universität Freiburg i. Br. (Geh. Hofrat Prof. Dr. Schottelius) und bin z. Z. Privatdozent für Hygiene und Bakteriologie.

Druck von Ant. Kämpfe, Jena.